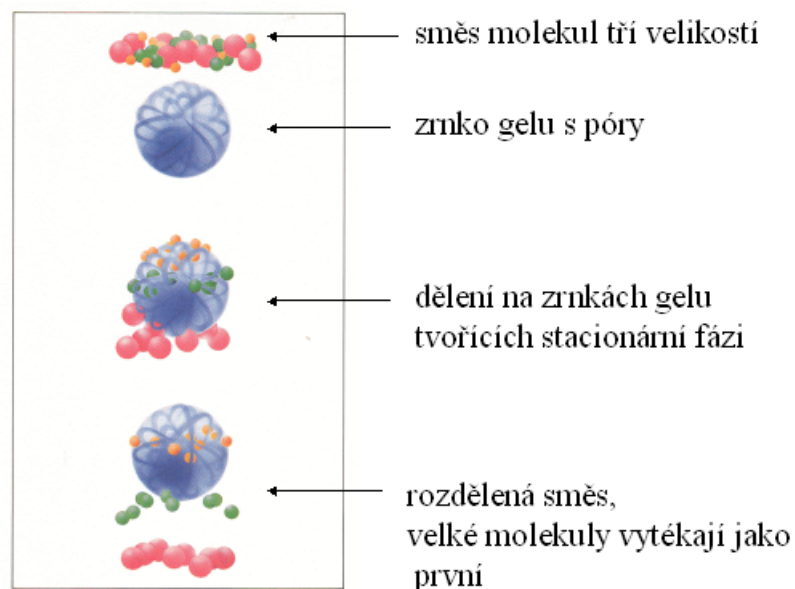


Gelová chromatografie

Gelová filtrace je chromatografická technika založená na dělení molekul především podle jejich velikosti, i když tvar a hydratace molekuly mají také určitý vliv. Jako stacionární fáze se používají pórzní gelové částice s definovanou velikostí pórů. Kapalinová chromatografie používá řadu materiálů včetně zesíťovaného dextranu (Sephadex), polyakrylamidu (Bio-Gel), agarosy (Sepharos) a kombinovaných materiálů (Ultrogel). Vhodnou volbou stacionární fáze o velikosti pórů dovolující penetraci analytu do nosiče lze předem ovlivnit průběh separace. Analyt je při postupu stacionární fází při eluci zdržován, zatímco velké molekuly, které pro svou velikost nemohou vstoupit do částic nosiče, jsou eluovány z kolony relativně rychle.



Úkoly:

1. Připravte uhličitanový pufr o neutrálním pH. Hodnotu pH ověřte pomocí univerzálních pH papírků.
2. Připravte chromatografickou kolonu k použití – hladina uhličitanového pufru musí klesnout těsně k povrchu gelu a mikropipetou nadávkujte 40 μ l vzorku. Vzorek obsahuje směs methyloranže a dextranové modře.
3. Po vsáknutí vzorku do gelu prolívejte kolonu pufrům a pozorujte rozdělování vzorku do jednotlivých zón. Pozorování zapište do svého protokolu.

HLADINA PUFRU NESMÍ KLESNOUT POD ÚROVEŇ GELU !!!

4. Chromatografii (prolévání kolony pufrům) ukončete tehdy až v koloně nebude přítomen žádný vzorek.